

大菜粉蝶根虫瘟霉菌株转染小菜蛾后侵染力变化及其与寄主血淋巴酚氧化酶活性的关系

李娟, 徐均焕*, 冯明光

(浙江大学微生物研究所, 杭州 310029)

摘要: 源于大菜粉蝶 *Pieris brassicae* 的根虫瘟霉 *Zoophthora radicans* 菌株 R_0 通过反复转染小菜蛾 *Plutella xylostella* 而分别获得转染菌株 R_1 、 R_3 和 R_5 。用这些菌株对小菜蛾 2 龄幼虫进行生物测定, 发现菌株对寄主的侵染力有随转染次数增加而增强的趋势。接种后第 1~6 天, R_0 的 LC_{20} (孢子数/mm²) 分别为 14.7、14.5、9.0、7.1、6.0 和 5.5; R_1 的 LC_{20} 分别为 9.6、5.0、4.2、3.6、3.1 和 3.0; R_3 的 LC_{20} 分别为 4.6、2.9、2.8、2.5、2.4 和 2.2; R_5 的 LC_{20} 分别为 5.2、3.7、3.2、2.8、2.6 和 2.6, 接种后同一天菌株 R_5 的 LC_{20} 值最小即侵染力最强。各菌株感染小菜蛾幼虫后可显著激活寄主血淋巴中的酚氧化酶活性, 但 R_1 、 R_3 和 R_5 对酚氧化酶的激活程度显著低于原始菌株 R_0 。各菌株对小菜蛾的侵染力强弱指标 $\log_{10}(LC_{20})$ 与其侵染后寄主血淋巴酚氧化酶活性呈明显正相关 ($0.85 < r^2 < 0.95$), 表明 R_0 在对新寄主转染过程中逐渐获得了逃避或克服新寄主免疫防御的能力, 从而增强对新寄主的侵染力。

关键词: 根虫瘟霉; 小菜蛾; 寄主转染; 酚氧化酶活性; 侵染力

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2004)05-0567-06

Infectivity of a *Pieris brassicae*-derived *Zoophthora radicans* isolate and its new host-passage isolates against *Plutella xylostella* in relation to the phenoloxidase activity in the new host hemolymph after infection

LI Juan, XU Jun-Huan*, FENG Ming-Guang (Institute of Microbiology, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: A *Pieris brassicae*-derived *Zoophthora radicans* isolate, R_0 , and its host-passage isolates $R_1 - R_5$, obtained by repeatedly passing through *Plutella xylostella* larvae, were bioassayed against the second instar larvae of the new host in the laboratory. The host-passage isolates tended to exhibit higher infectivity to the new host than the original isolate as the number of host passages increased. Based on the time-concentration-mortality modeling, the LC_{20} (a lethal concentration to cause 20% mortality) on days 1-6 after exposure to spore showers was estimated as 14.7, 14.5, 9.0, 7.1, 6.0 and 5.5 spores/mm² respectively for R_0 ; 9.6, 5.0, 4.2, 3.6, 3.1 and 3.0 spores/mm² for R_1 ; 4.6, 2.9, 2.8, 2.5, 2.4 and 2.2 spores/mm² for R_3 ; and 5.2, 3.7, 3.2, 2.8, 2.6 and 2.6 spores/mm² for R_5 . The phenoloxidase activities were significantly lower in the larval hemolymph stimulated by the infection of the host-passage isolates. There was also a positive correlation between the $\log_{10}(LC_{20})$ and the detected phenoloxidase activities among the isolates ($0.85 < r^2 < 0.95$). Apparently, the increased infectivity to the new host may result from an ability of the original *Z. radicans* isolate to avoid or overcome its immune defense in the course of the repeated new host passages.

Key words: *Zoophthora radicans*; *Plutella xylostella*; host passage; phenoloxidase activity; infectivity

根虫瘟霉 *Zoophthora radicans* (虫霉目: 虫霉科) 是一种在自然条件下能感染同翅目、鳞翅目、双翅目、鞘翅目和膜翅目等多目昆虫的病原真菌, 在害虫

的自然控制中发挥着重要作用 (冯明光和李增智, 1995)。不同寄主来源的根虫瘟霉菌株对不同寄主往往表现出不同的侵染力, 一般对原始及近缘寄主

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30070025); 浙江省自然科学基金项目 (302016); 国家科技部项目 (G2000016208-04)

作者简介: 李娟, 女, 1980 年生, 内蒙古阿拉善左旗人, 硕士研究生, 应用微生物研究方向, E-mail: lijuan5311@sohu.com

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 0571-86434359; E-mail: xujh@zju.edu.cn

收稿日期 Received: 2003-12-30; 接受日期 Accepted: 2004-03-21

的侵染力较高,而对亲缘关系较远的非原始寄主的侵染力较低(Glare and Milner, 1991)。如源自小菜蛾 *Plutella xylostella* 的根虫瘟霉菌株对小菜蛾幼虫的侵染力远高于源自其他寄主的菌株对小菜蛾的侵染力,尤其源自大菜粉蝶 *Pieris brassicae* 的菌株对小菜蛾的侵染力很弱,而再次感染小菜蛾时则侵染力明显增强(刘青娥等, 2003)。这说明非原始寄主的菌株有可能通过对新寄主的适应而增强侵染力,但这种现象发生的机制目前国内外研究报道甚少。

昆虫病原真菌侵入昆虫体壁后主要在血腔中繁殖而致虫体僵化死亡,其成功侵染必须克服寄主血淋巴的免疫防御(Butt *et al.*, 1988; Hajek and St. Leger, 1994)。其中,逃避寄主免疫识别是病菌成功侵染的重要途径,故其侵染力是反映病菌和寄主免疫系统相互作用的重要指标(Yu *et al.*, 2002)。由于真菌在入侵寄主过程中,通常会与寄主血淋巴中的酚氧化酶系统作用而激活酚氧化酶,其活性高低能较好反映真菌逃避寄主免疫识别的能力(Hung and Boucias, 1996)。我们试图通过转染菌株的侵染力与其侵染后寄主血淋巴酚氧化酶活力变化的关系,明确对小菜蛾侵染力差的大菜粉蝶根虫瘟霉菌株是否通过多次转染小菜蛾而获得逃避新寄主免疫识别的适应性以致增强对新寄主的侵染力。

1 材料和方法

1.1 菌种来源及培养

根虫瘟霉菌株 ARSEF1342 由美国农业部植物保护研究所昆虫病原真菌收藏中心提供,1983 年 10 月采于波兰,原始寄主为大菜粉蝶。以 ARSEF1342 为原始菌株 R_0 ,通过高浓度接种小菜蛾,从病死虫尸中分离获得第一代转寄主菌株 R_1 ,再用 R_1 高浓度接种小菜蛾分离获得第二代转寄主菌株 R_2 ,同样方法依次获得第三至五代转寄主菌株 R_3 、 R_4 和 R_5 。将各代转寄主菌株接种于萨氏培养基(1%蛋白胨、1%酵母粉、4%葡萄糖、1.5%琼脂、0.5%芝麻油及适量乳化剂)中,4℃下保藏,每隔半年转接一次。

用于毒力测定时,各供试菌株在温光(15℃, 12L:12D)培养箱中以 SEMA 平板培养,适时转入萨氏培养液中,摇床振荡培养 2 天后转接,培养液体积依次为 30 mL、80 mL 和 200 mL,最后将菌液铺于 2%水琼脂平板上,去除多余水分后在 20℃下培养至产孢盛期,即可用于接种。

1.2 小菜蛾饲养

供试 2~3 龄小菜蛾幼虫的饲养及获得方法参照刘青娥等(2003)。

1.3 血淋巴的提取

提取方法参照刘青娥等(2004)。取小菜蛾 2~3 龄幼虫经“孢子浴”接种(在同一剂量下接种,幼虫龄期相同),在接种后第 1~4 天每天分别取各菌株接种的幼虫 40 头(其余继续饲养),并以未接种的小菜蛾幼虫为对照,分别提取血淋巴。用解剖刀切开幼虫体壁,使其血液迅速溶于抗凝固缓冲液(62 mmol/L NaCl, 100 mmol/L 葡萄糖, 10 mmol/L EDTA, 30 mmol/L 柠檬酸三钠, 26 mmol/L 柠檬酸, pH 4.6)中,4℃下 $800 \times g$ 离心 3 min,取上清液。将收集的上清液在 4℃下用 10 mmol/L 二甲砷酸钠缓冲液中透析 1 h。用 Bradford(1976)方法测定血淋巴蛋白浓度,即以考马斯亮蓝 G250 染色后在紫外分光光度计上测定样品的 OD₅₉₅,并以结晶牛血清白蛋白作为标准而制定标准曲线。各实验均设 3 次重复。

1.4 酚氧化酶活性测定

在 3 g/L 多巴溶液 300 μL 中加入血淋巴 100 μL,于室温下反应 10 min,在 490 nm 下测定 OD 值,并以多巴溶液为对照。每个样品重复 3 次。酶活性以每分钟每毫克蛋白 OD₄₉₀ 的变化来表示(Asokan *et al.*, 1998)。

1.5 生物测定

采用“孢子浴”方法对小菜蛾 2~3 龄幼虫进行接种,接种后共观察 6 天,细节参见刘青娥等(2003)。

1.6 数据处理

所获观察数据用对照进行校正后,分别用时间-浓度-死亡率模型进行分析。有关该模型的生物学基础、建模步骤、参数拟合及检验、时间与浓度效应估计等模拟及运算原理,参见 Feng 等(1998)、Feng 和 Poprawski(1999)。模型拟合及运算过程采用 DPS 数据处理系统软件(唐启义和冯明光, 2002)。校正死亡率(%) = [(实验组死亡率 - 对照组死亡率)/(1 - 对照组死亡率)] × 100。

2 结果与分析

2.1 根虫瘟霉转寄主菌株的毒力变化

接种不同浓度的根虫瘟霉后,原始菌株 R_0 在浓度(孢子个数/mm²)为 4.0~239.5 时,小菜蛾幼虫 6 日累计死亡率为 6.3%~15.2%,第 3~5 天病死幼

虫较常见; 菌株 R_1 在浓度为 7.5~206.6 时, 小菜蛾幼虫 6 日累计死亡率为 7.5%~33.3%, 第 2~4 天病死幼虫较常见; 菌株 R_3 在浓度为 6.1~292.1 时, 小菜蛾幼虫 6 日累计死亡率为 5.1%~28.9%, 第 2~4 天病死幼虫较常见; 菌株 R_5 接种浓度为 5.5~292.1 时, 小菜蛾幼虫 6 日累计死亡率为 5.5%~17.6%, 第 3~5 天病死幼虫较常见; 各代菌株生测中对照的幼虫累计死亡率分别仅为 2.2%、2.2%、3.9% 和 2.0%。显然, 原始菌株 R_0 转寄主后出现了非原始寄主小菜蛾幼虫侵染力增强的趋势。

将各生测中获得的时间-浓度-死亡率数据用对

照死亡率校正后进行模拟分析, 获得各菌株的浓度效应参数(β)估计, 条件死亡率的时间效应参数(γ_j)估计和累计死亡率的时间效应参数估计(τ_j)。各参数估计值的 t 测验均达到极显著水平($P < 0.01$), 所建模型均通过 Hosmer-Lemeshow 异质性检验(唐启义和冯明光, 1997) ($R_0: C = 4.45, P = 0.81; R_1: C = 10.11, P = 0.81; R_3: C = 2.293, P = 0.94; R_5: C = 7.02, P = 0.53$), 表明 4 个菌株对小菜蛾的生测数据很好地拟合时间-浓度-死亡率模型。各菌株对小菜蛾的累计死亡率随孢子浓度和接种后天数的拟合效果见图 1。

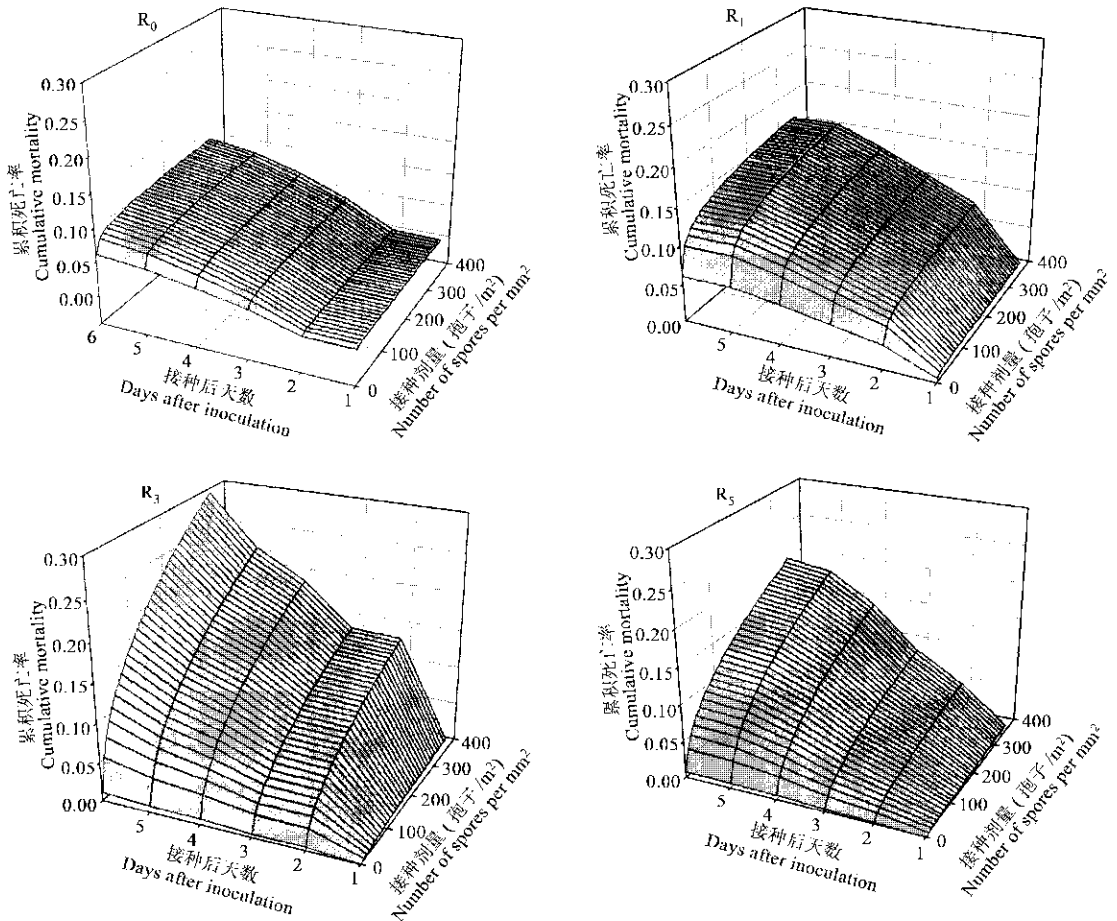


图 1 时间-浓度-死亡率模拟的大菜粉蝶根虫瘟霉菌株 R_0 及其转寄主菌株 R_1 , R_3 和 R_5 对小菜蛾 2 龄幼虫的累积死亡率

Fig. 1 Cumulative mortality probabilities of a *Pieris brassicae*-derived isolate *Z. radicans* R_0 and its *Plutella xylostella*-passage isolates R_1 , R_3 and R_5 against *P. xylostella* larvae, based on the time-concentration-mortality modeling

菌株 R_1 的浓度效应参数 β 值略大于 R_0 的 β 值, 前者为 0.37, 后者为 0.22, 但二者之间差异不显著($t = 1.89, P > 0.01$)。相反, 菌株 R_3 和 R_5 的 β 值分别为 1.21 和 1.17, 虽二者间差异不显著($t = 0.43, P > 0.01$), 但均显著大于菌株 R_0 ($t = 13.17$ 和 $11.19, P < 0.01$) 和 R_1 ($t = 10.64$ 和 $9.07, P <$

0.01)。这表明随着转寄主代数的增加, 菌株对小菜蛾的侵染力明显增强。同时, 根据条件死亡率模型的时间效应参数 γ_j 的估计值, R_0 在第 3 天引起死亡最多, R_1 、 R_3 和 R_5 在第 2 天引起的死亡最多, 表明继代转寄主菌株侵染小菜蛾的时间也明显缩短。

用浓度与时间效应参数值估计出各菌株致死小

菜蛾 20% 所需的孢子浓度 LC_{20} 值(孢子个数/ mm^2)。接种后 1~6 天内, R_0 的 LC_{20} 分别为 14.7、14.5、9.0、7.1、6.0 和 5.5; R_1 分别为 9.6、5.0、4.2、3.6、3.1 和 3.0; R_3 分别为 4.6、2.9、2.8、2.5、2.4 和 2.2; R_5 分别为 5.2、3.7、3.2、2.8、2.6 和 2.6, 同一时间菌株 R_3 的 LC_{20} 值最小。

2.2 被侵染寄主血淋巴中酚氧化酶活性的变化

小菜蛾幼虫被根虫瘟霉各转寄主菌株入侵后, 血淋巴中酚氧化酶活性见表 1。方差分析表明, 酚氧化酶活性的显著差异存在于不同菌株间 ($F = 31\ 460$, $P < 0.01$) 和接种后的不同时间段之间 ($F = 3\ 886$, $P < 0.01$), 且两者间互作也极显著 ($F = 8\ 813$, $P < 0.01$)。首先, 幼虫接种后其血淋巴的酚氧化酶活性均极显著高于未接种的幼虫血淋巴酚氧化酶活性。其次, 接种转寄主菌株的幼虫血淋巴酚

氧化酶活性总体上呈现低于接种原始菌株 R_0 的酚氧化酶活性的趋势。同时, 接种后不同时间段的血淋巴酚氧化酶活性也有显著差异, 如未接种的幼虫血淋巴中酚氧化酶活性持续保持较低水平, 而原始菌株 R_0 接种的幼虫血淋巴中酚氧化酶活性逐渐升高, 至第 4 天达最大值。相反, R_1 和 R_3 菌株接种的幼虫血淋巴酚氧化酶活性始终保持较低水平, 在第 3 天达最高值, 而 R_5 菌株接种的幼虫血淋巴酚氧化酶活性在第 1 天即达最高值。这正好符合各菌株的侵染速率, 但从总体看, R_0 接种的幼虫血淋巴中酚氧化酶活性均极显著地高于同期转寄主各菌株接种的幼虫血淋巴酚氧化酶活性。由此表明, 源于大菜粉蝶的原始菌株比转寄主菌株在入侵过程中可能受到新寄主更为强烈的免疫识别反应。

表 1 接种根虫瘟霉转寄主各代菌株后小菜蛾幼虫血淋巴中的酚氧化酶活性

Table 1 Phenoloxidase activity in hemolymph of *P. xylostella* larvae after infection by *Z. radicans* isolates $R_0 - R_5$

接种后天数 Days after inoculation	酚氧化酶活性 Phenoloxidase activity [$OD_{490}/(\text{min} \cdot \text{mg})$] ($\pm SE$)*				
	R_0	R_1	R_3	R_5	CK
1	2.23 \pm 0.01 D b	1.50 \pm 0.02 A c	1.27 \pm 0.03 B d	1.16 \pm 0.05 A e	2.41 \pm 0.06 A a
2	3.17 \pm 0.02 C d	1.39 \pm 0.03 B a	1.27 \pm 0.05 B b	0.63 \pm 0.02 D c	0.70 \pm 0.02 C d
3	4.38 \pm 0.00 B a	1.53 \pm 0.01 A c	2.04 \pm 0.01 A b	0.88 \pm 0.03 B d	0.81 \pm 0.06 B d
4	10.71 \pm 0.09 A a	0.70 \pm 0.01 C d	0.92 \pm 0.02 C b	0.80 \pm 0.00 I C c	0.55 \pm 0.00 D e

* 表中不同大、小写字母分别表示同一列或同一行的平均值间差异达极显著水平 ($P < 0.01$) Table entries with different lowercase letters in each line or uppercase letters in each column differed significantly ($P < 0.01$) based on Duncan's multiple-range test after two-way analysis of variance.

2.3 被侵染寄主血淋巴中酚氧化酶活性与毒力的关联

将通过时间-浓度-死亡率模型模拟产生的接种后每天对小菜蛾 2 龄幼虫的 $\log_{10}(LC_{20})$ (y) 与各代转寄主菌株接种后每天幼虫血淋巴中的酚氧化酶活性 (x) 进行线性回归分析, 如表 2 所列, 接种后第 1

天、第 2 天及第 4 天两变量间均存在显著关联 ($r^2 > 0.91$, $P < 0.05$); 第 3 天的相关性虽未达显著水平 ($P = 0.07$), 但两变量间的关联程度也达 85% ($r^2 = 0.85$)。因此, 各菌株接种后幼虫血淋巴中的酚氧化酶活性与其毒力的关联程度达 85% ~ 95%。

表 2 根虫瘟霉各转寄主菌株对小菜蛾幼虫的 $\log_{10}(LC_{20})$ 与接种后幼虫血淋巴中酚氧化酶活性的关联

Table 2 Correlation between the $\log_{10}(LC_{20})$ of *Z. radicans* isolates $R_0 - R_5$ against *P. xylostella* larvae and the phenoloxidase activity in the larval hemolymph after infection

接种后天数 Days after infection	回归参数估计 Parameters estimated from regression				
	$a \pm SE$	$b \pm SE$	F	P	r^2
1	-6.069 \pm 2.780	9.465 \pm 1.740	29.573	0.032	0.937
2	-1.150 \pm 1.994	4.734 \pm 1.067	19.693	0.047	0.908
3	0.058 \pm 1.460	1.919 \pm 0.568	11.433	0.074	0.851
4	2.635 \pm 0.357	0.416 \pm 0.066	39.718	0.024	0.952

3 讨论

本研究结果表明,源自大菜粉蝶的根虫瘟霉菌株随着转染小菜蛾的次数增加,其对新寄主的侵染力确有增强趋势,这种趋势与原始菌株适应新寄主而获得的逃避新寄主免疫识别的能力相关,具体表现为新寄主在受转染菌株侵染后血淋巴中酚氧化酶活性的显著降低。当菌株入侵时,通常会有一个酚氧化酶活性高峰出现。如在 R_0 感染后第 4 天、 R_1 和 R_3 感染后第 3 天以及 R_5 感染后第 1 天分别出现酚氧化酶高峰,表明寄主在遭受转染菌株入侵时受到一定的损伤,其免疫互作使酚氧化酶活性先迅速上升,但随后因菌株的适应性增强而使酚氧化酶活性又迅速下降。在侵入后期寄主体内血淋巴酚氧化酶活性受到抑制,这与已报道的昆虫病原真菌(Hung and Boucias, 1996)和寄生蜂(Richards and Edwards, 2000)入侵使寄主血淋巴酚氧化酶活性受抑制的趋势是相一致的。对寄主血淋巴酚氧化酶活性受到抑制有 3 种可能解释:一是根虫瘟霉入侵后期可能产生一些特定的酚氧化酶活性抑制因子,如同被黄蜂 *Pimpla turionella* 寄生的幼虫肛门分泌物中含有特异性的酚氧化酶抑制因子(Fuhrer and Willers, 1986);二是根虫瘟霉进入寄主血腔后,可能伴随菌体增殖而分泌具有免疫抑制作用的代谢产物,如金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 分泌的毒素能抑制沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 的酚氧化酶活性(Huxham *et al.*, 1989);三是根虫瘟霉在寄主血腔内长出的菌丝体可能本身就是抑制因子,促使酚氧化酶活性下降,如长有白僵菌菌丝体的甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 酚氧化酶血腔内的酚氧化酶活性与未接种的相比降低了 50%(Hung and Boucias, 1996)。总之,小菜蛾血淋巴酚氧化酶活性的下降,表明了根虫瘟霉转寄主菌株经过适应侵染能逐渐突破寄主的免疫系统(Gillespie *et al.*, 2000)。

虫霉侵染力的大小在很大程度上取决于它们逃避或克服寄主免疫防御的能力。在本研究中,菌株侵染力与寄主酚氧化酶活性间表现较高的相关性(表 2)。这说明寄主血淋巴中酚氧化酶活性不仅是衡量其受侵染过程中免疫防御能力的一个重要指标,同时也可作为菌株侵染力的重要参考指标。

参考文献 (References)

Asokan R, Arumugam M, Mullainadhan P, 1998. Functional analysis of

- plasma prophenoloxidase system in the marine mussel *Perna viridis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 120A: 753 - 762.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248 - 254.
- Butt TM, Wraight SP, Galaini-Wraight S, Humber RA, Roberts DW, Soper RS, 1988. Humoral encapsulation of the fungus *Erynia radicans* (Entomophthorales) by the potato leafhopper *Empoasca fabae* (Homoptera). *J. Invertebr. Pathol.*, 52: 49 - 56.
- Feng MG, Li ZZ, 1995. Entomophora and its utilization. In: Chen T ed. *Microbial Control of Pest Organisms: Principles and Technology*. Wuhan: Hubei Science and Technology Press. 273 - 291. [冯明光, 李增智, 1995. 虫霉菌及其利用. 见: 陈涛主编. 有害生物的微生物防治原理和技术. 武汉: 湖北科学技术出版社. 273 - 291]
- Feng MG, Liu CL, Xu JH, Xu Q, 1998. Modeling and biological implication of the time-dose-mortality data for the entomophthorean fungus *Zoophthora anhuiensis* on the green peach aphid, *Myzus persicae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 72: 246 - 251.
- Feng MG, Poprawski TJ, 1999. Robustness for the processing of bioassay data of microbial control agents based on time-dose-mortality model. *Subtropical Plant Science*, 51: 36 - 38.
- Fuhrer E, Willers D, 1986. The anal secretion of the endoparasitic larva *Pimpla turionella*: sites of production and effects. *J. Insect Physiol.*, 32: 361 - 367.
- Gillespie JP, Burnett C, Charnley AK, 2000. The immune response of the desert locust *Schistocerca gregaria* during mycosis of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var *acidum*. *J. Insect Physiol.*, 46: 429 - 437.
- Glare TR, Milner RJ, 1991. Ecology of entomopathogenic fungi. In: Arora DK, Ajello L, Mukerji KG eds. *Handbook of Applied Mycology*. New York: Marcel Dekker. 547 - 612.
- Hajek AE, St. Leger RJ, 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annu. Rev. Entomol.*, 39: 293 - 322.
- Hung SY, Boucias DG, 1996. Phenoloxidase activity in hemolymph of naive and *Beauveria bassiana*-infected *Spodoptera exigua* larvae. *J. Invertebr. Pathol.*, 67: 35 - 40.
- Huxham IM, Lackie AM, McCorkindale NJ, 1989. Inhibitory effects of cyclodepsipeptides, destruxins, from the fungus *Metarhizium anisopliae*, on cellular immunity in insects. *J. Insect Physiol.*, 35: 97 - 105.
- Liu QE, Xu JH, Feng MG, 2003. Comparative virulence of *Zoophthora radicans* isolates from different hosts against *Plutella xylostella* larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 46(4): 447 - 453. [刘青娥, 徐均焕, 冯明光, 2003. 不同寄主来源的根虫瘟霉菌株对小菜蛾幼虫的毒力比较. 昆虫学报, 46(4): 447 - 453]
- Liu QE, Xu JH, Feng MG, 2004. Activation of prophenoloxidase by *Zoophthora radicans* isolates from different hosts in hemolymph of *Plutella xylostella* larvae (Lepidoptera: Plutellidae). *Acta Entomologica Sinica*, 47(4): 434 - 438. [刘青娥, 徐均焕, 冯明光, 2004. 根虫瘟霉不同菌株对小菜蛾幼虫血淋巴酚氧化酶原的激活作用. 昆虫学报, 47(4): 434 - 438]
- Richards EH, Edwards JP, 2000. Parasitism of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera) by the ectoparasitoid, *Eulophus pennicornis*, is associated

- with a reduction in host haemolymph phenoloxidase activity. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 127B: 289 – 298.
- Tang QY, Feng MG, 2002. DPS Data Processing System for Practical Analysis. Beijing: Science Press. 1 – 648. [唐启义, 冯明光, 2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社. 1 – 648]
- Yu XQ, Zhu YF, Ma C, Fabrick JA, Kanost MR, 2002. Pattern recognition proteins in *Manduca sexta* plasma. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32: 1 287 – 1 293.

(责任编辑: 黄玲巧)